

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

29 SEP 2004



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts BASF/NAE 627/01 PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/02955	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 21.03.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 30.03.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N9/10		
Anmelder BASF PLANT SCIENCE GMBH		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  29.09.2003	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  05.07.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde   Europäisches Patentamt - Gitschiner Str. 103 D-10958 Berlin Tel. +49 30 25901 - 0 Fax: +49 30 25901 - 840	Bevollmächtigter Bediensteter  Schönwasser, D Tel. +49 30 25901-318  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

**Beschreibung, Seiten**

30 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Ansprüche, Nr.**

1-10 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Zeichnungen, Blätter**

1/4-4/4 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
  - ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
  - ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).
3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:
- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
  - ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
  - ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
  - ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.
4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:
- ☐ Beschreibung,      Seiten:
  - ☐ Ansprüche,      Nr.:
  - ☐ Zeichnungen,      Blatt:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/02955

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung:

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 2,3,6
	Nein: Ansprüche 1,4,5,7-10
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ja: Ansprüche -
	Nein: Ansprüche 1-10
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ja: Ansprüche 1-10
	Nein: Ansprüche -

2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 00 60095 A (BASF PLANT SCIENCE GMBH) 12. Oktober 2000 (2000-10-12) in der Anmeldung erwähnt
- D2: VAN DE LOO F.J. ET AL.: 'Lipid Metabolism in Plants' 1993, CRC PRESS INC., BOCA RATON, FLORIDA, USA XP008020068 ISBN: 0-8493-4907-9
- D3: ABBADI A ET AL.: 'Transgenic oilseeds as sustainable source of nutritionally relevant C20 and C22 polyunsaturated fatty acids?' EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY, WILEY VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, Bd. 103, Nr. 2, Februar 2001 (2001-02), Seiten 106-113, XP002228744 ISSN: 1438-7697

**1. Neuheit und erfinderische Tätigkeit (Art. 33(2)(3), PCT)**

- 1.1 Die vorliegende Anmeldung beansprucht die Verwendung eines Enzymgemisches, das mindestens ein Enzym mit Phospholipid:Diacylglycerin-Acyltransferase (PDAT) Aktivität enthält, zur Herstellung von Lipiden, die in pflanzlichen Lipidspeichern vorkommen (z. B. Triacylglycerin, TAG) und die mehrfach ungesättigte Fettsäuren, z.B.  $\gamma$ -Linolensäure oder Stearidonsäure, enthalten.
- 1.2 D1 offenbart PDAT Sequenzen mehrerer Organismen (S. 4, Zeile 15-30), unter anderem die aus *Arabidopsis thaliana* stammende PDAT Gensequenzen (SEQ ID NO:5), die 99.9% Identität mit der in Anspruch 10 erwähnten PDAT Sequenz besitzt (SEQ ID NO:1) und die entsprechende PDAT Proteinsequenz (SEQ ID NO:6), die mit der in Anspruch 10 erwähnten Proteinsequenz (SEQ ID NO:2) der Anmeldung identisch ist. Weiterhin werden in D1 Verfahren zur Herstellung von pflanzlichen Speicherlipiden (z. B. TAG) in transgenen Zellen oder Organismen durch Expression von PDAT beschrieben (Seite 8, Zeile 22-Seite 9, Zeile 16, besonders Seite 9, Zeilen 10-13; Seite 17, Zeile 7-Seite 19, Zeile 18). Die Verwendung von PDAT zur Herstellung von TAG mit ungewöhnlichen Fettsäuren -

zu denen in D1 z.B. auch die mehrfach ungesättigte  $\gamma$ -Linolensäure und Stearidonsäure gezählt werden (siehe Referenz 20 (D2) auf Seite 16, Zeile 2 von D1) - ist ebenfalls in D1 beschrieben (Seite 16, Zeile 1-Seite 17, Zeile 2; Anspruch 26).  
Somit sind die geltenden Ansprüche 1,4,5 und 7-10 nicht neu gegenüber D1 (Art. 33(2), PCT).

Außerdem würde es der Fachmann angesichts der Ausführungen auf Seite 1, Zeilen 29-32 in D1 als übliche Vorgehensweise ansehen, die in Anspruch 2, bzw. Anspruch 3 aufgeführten Merkmale mit den Merkmalen des Anspruchs 1 zu kombinieren, da die Information, daß z.B. Desaturasen Doppelbindungen in Fettsäuren einfügen können oder Elongasen Fettsäuren verlängern können, zum Stand der Technik gehört (siehe z. B. D3, besonders Seite 108, Spalte 1, Zeilen 16-29; Seite 109, Spalte 2, Zeilen 8-24).

Der Gegenstand der Ansprüche 2 und 3 beruht somit nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit und erfüllt damit nicht das in Artikel 33(3) PCT genannte Kriterium.

Weiterhin würde der Fachmann es ebenfalls als eine übliche Maßnahme zur Lösung der gestellten Aufgabe ansehen, die Kopienzahl eines Transgens zur Erhöhung der Genexpression bzw. Proteinaktivität zu erhöhen.

Anspruch 6 kann daher ebenfalls nicht als erfinderisch betrachtet werden (Art. 33(3) PCT).

Allgemein erscheint es nicht erfinderisch, ein Enzym, von dem bekannt ist, daß es Fettsäuren auf DAG überträgt und auf diese Weise pflanzliche Speicherlipide (z.B. TAG) bildet, zu benutzen, um nicht nur Fettsäuren allgemein, sondern auch mehrfach ungesättigte Fettsäuren im speziellen auf DAG zu transferieren und so pflanzliche Speicherlipide mit mehrfach ungesättigte Fettsäuren herzustellen. Die Tatsache, daß PDAT für eine solche Reaktion auch mehrfach ungesättigte Fettsäuren verwenden kann, ist angesichts der allgemeinen Lehre nicht überraschend, sondern vielmehr zu erwarten.

## **2. Weitere Bemerkungen**

### **2.1 Anspruch 5 enthält zweimal den Ausdruck "Gamma-Linolensäure" in einer Aufzählung (Art. 6 PCT).**

- 2.2 Die auf Seite 30, Zeile 9 beschriebene Enzymaktivität scheint sich nicht auf "PADAT", sondern auf "PDAT" zu beziehen (Art. 5, PCT).
- 2.3 Die Figuren 1-3 sind in englischer Sprache abgefaßt, während der Rest der Anmeldung und der Antrag auf internationale vorläufige Prüfung in deutscher Sprache eingereicht wurden (Art. 3, PCT).

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP2003/002955



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

29 SEP 2004

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference NAE 627/01 PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/002955	International filing date (day/month/year) 21 March 2003 (21.03.2003)	Priority date (day/month/year) 30 March 2002 (30.03.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 9/10		
Applicant BASF PLANT SCIENCE GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of                      sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 29 September 2003 (29.09.2003)	Date of completion of this report 05 July 2004 (05.07.2004)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International Application No.

PCT/EP2003/002955

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

☐ the international application as originally filed

☒ the description:

pages 30, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☒ the claims:

pages 1-10, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☒ the drawings:

pages 1/4-4/4, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages \_\_\_\_\_

☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_

☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 03/02955

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement			
Novelty (N)	Claims	2, 3, 6	YES
	Claims	1, 4, 5, 7-10	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-10	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

- D1: WO 00 60095 A (BASF PLANT SCIENCE GMBH)  
12 October 2000 (2000-10-12), cited in the  
application
- D2: VAN DE LOO F.J. ET AL.: 'Lipid Metabolism in  
Plants' 1993, CRC PRESS INC., BOCA RATON,  
FLORIDA, USA XP008020068 ISBN: 0-8493-4907-9
- D3: ABBADI A ET AL: 'Transgenic oilseeds as  
sustainable source of nutritionally relevant C20  
and C22 polyunsaturated fatty acids?', EUROPEAN  
JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY, WILEY  
VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, Vol. 103, No. 2,  
February 2001 (2001-02), pages 106-113,  
XP002228744 ISSN: 1438-7697

1. Novelty and inventive step (PCT Article 33(2) and  
(3))

- 1.1 The present application claims the use of an enzyme  
mixture containing at least one enzyme having  
phospholipid:diacylglycerol acyltransferase (PDAT)  
activity for producing lipids which occur in plant  
lipid stores (e.g. triacylglycerol, TAG) and contain

polyunsaturated fatty acids, e.g.  $\gamma$ -linolenic acid or stearidonic acid.

- 1.2 D1 discloses PDAT sequences of a number of organisms (page 4, lines 15 to 30), including the PDAT gene sequence (SEQ ID NO. 5) originating from *Arabidopsis thaliana*, which is 99.9 % identical to the PDAT sequence mentioned in claim 10 (SEQ ID NO. 1), and the corresponding PDAT protein sequence (SEQ ID NO. 6), which is identical to the protein sequence of the application mentioned in claim 10 (SEQ ID NO. 2). Furthermore, D1 describes methods of producing plant lipid stores (e.g. TAG) in transgenic cells or organisms by PDAT expression (page 8, line 22, to page 9, line 16, in particular page 9, lines 10 to 13; page 17, line 7, to page 19, line 18). The use of PDAT to produce TAG with unconventional fatty acids - including in D1, for example, polyunsaturated  $\gamma$ -linolenic acid and stearidonic acid (see reference 20 (D2), page 16, line 2, of D1 - is also described in D1 (page 16, line 1, to page 17, line 2; claim 26).

Thus the current claims 1, 4, 5 and 7 to 10 are not novel over D1 (PCT Article 33(2)).

Moreover, in view of the comments on page 1, lines 29 to 32, of D1, a person skilled in the art would consider it conventional procedure to combine the features of claim 2 or claim 3 with the features of claim 1, since the information that desaturase double bonds can be introduced into fatty acids or elongases can extend fatty acids is prior art (see, for example, D3, in particular page 108, column 1,

lines 16 to 29; page 109, column 2, lines 8 to 24).

Therefore the subject matter of claims 2 and 3 does not involve an inventive step and hence does not meet the requirement of PCT Article 33(3).

Furthermore, a person skilled in the art would likewise consider the increasing of the copy number of a transgene in order to increase gene expression or protein activity a conventional measure for solving the problem of interest.

Therefore claim 6 also cannot be considered inventive (PCT Article 33(3)).

In general, it does not appear inventive to use an enzyme known to transfer fatty acids to DAG and thus form plant store lipids (e.g. TAG) in order to transfer not only fatty acids in general but also polyunsaturated fatty acids in particular to DAG and thus produce plant store lipids with polyunsaturated fatty acids. The fact that PDAT can also use polyunsaturated fatty acids for such a reaction is not surprising, on the contrary it is to be expected, in view of the general teaching.

## **2. Further observations**

2.1 The expression "gamma linolenic acid" appears twice in claim 5 (PCT Article 6).

2.2 The enzyme activity described on page 30, line 9, appears to refer to "PDAT", not "PADAT" (PCT Article 5).

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 03/02955

2.3 Figures 1 to 3 are drafted in English, whilst the remainder of the application and the demand for international preliminary examination were filed in German (PCT Article 3).

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**